Ueber das

2-Brom-3-Aethoxyflavon.

Beitrag zur Kenntnis der Hydrolyse von Eiweisskörpern.

Inaugural-Dissertation

der

mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Freiburg in der Schweiz

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Heinrich Ryl

aus Kielce (Polen)

BERN

Buchdruckerei Gottfr. Iseli

1902

Ueber das

2-Brom-3-Aethoxyflavon.

Beitrag zur Kenntnis der Hydrolyse von Eiweisskörpern.

Inaugural-Dissertation

der

mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Freiburg in der Schweiz

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Heinrich Ryl

aus Kielce (Polen)

ACAD.
GD.BAT.
BIBL.

BERN

Buchdruckerei Gottfr. Iseli

1902

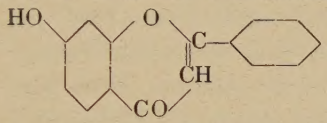
Meiner lieben Mutter

in Dankbarkeit

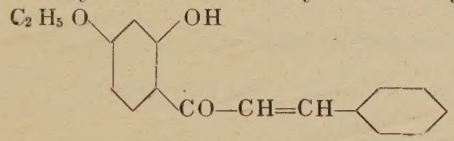
gewidmet

Ueber das 2-Brom-3-Aethoxyflavon.

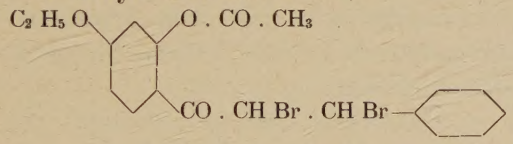
In der vor kurzem erschienenen Mitteilung von v. Kostanecki und Emilewicz [1] wurde über die Darstellung von 3-Oxyflavon,



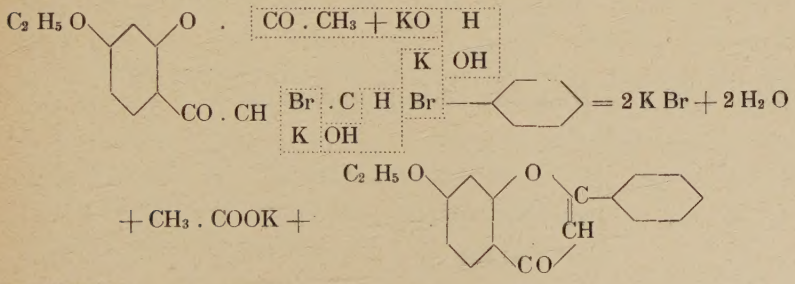
berichtet. Dasselbe entsteht, wenn Resacetophenonmonoaethyläther mit Benzaldehyd zu dem 2'-Oxy-4'-Aethoxychalkon,



gepaart, dieses acetyliert und bromiert und das erhaltene 2'-Acetoxy-4'-Aethoxychalkondibromid,



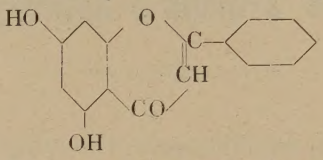
der Einwirkung von alkoholischer Kalilauge unterworfen wird:



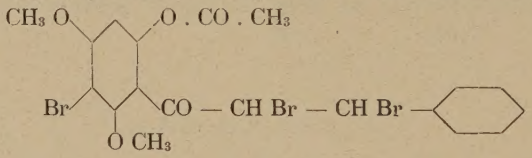
[1] Ber. 31, 696.

Es resultiert hierbei das 3-Aethoxyflavon, welches durch Behandlung mit Jodwasserstoffsäure in das 3-Oxyflavon übergeht.

Auf Grund dieses Verhaltens des 2'-Acetoxy-4'-Aethoxychalkondibromids wurden von Emilewicz, v. Kostanecki und Tambor [1] Versuche zur Synthese des Chrysins,

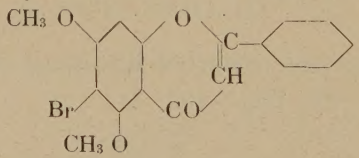


angestellt. Es wurde Phloracetophenondimethyläther mit Benzaldehyd zu dem 4',6'-Dimethoxychalkon gepaart, die letztere Verbindung acetyliert und der Einwirkung von Brom unterworfen. Es zeigte sich hierbei, dass das Brom nicht nur addiert wird, sondern auch substituierend einwirkt, sodass das 2'-Acetoxy-4', 6'-Dimethoxybromchalkondibromid,

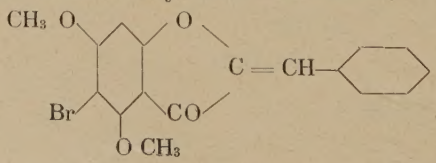


resultiert.

Dieses Dibromid verhielt sich gegenüber alkoholischer Kalilauge ganz anders wie das oben erwähnte 2'-Acetoxy-4'-Aethoxychalkondibromid. Es lieferte nämlich nicht den Bromchrysindimethyläther,



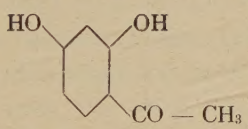
sondern das 1, 3-Dimethoxybromcumaranon,



[1] Ber. 32, 2260.

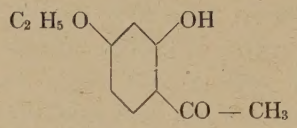
Das verschiedene Verhalten der beiden Dibromide ist in hohem Grade auffallend. Es regte die für weitere Versuche zur Synthese des Chrisins wichtige Frage an, ob diese Verschiedenheit dadurch bedingt ist, dass das erstere Dibromid einen Resorcinrest, das andere hingegen einen Phloroglucinrest enthält, oder ob sie auf die Anwesenheit des Bromatoms in dem Ketonreste der zweiten Verbindung zurückzuführen ist. Um diese Frage zu entscheiden, habe ich durch Paarung des Bromresacetophenon-monoaethyläthers mit Benzaldehyd das 2'-Oxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkon dargestellt, das letztere acetyliert und bromiert und das entstandene 2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkondibromid der Einwirkung von alkoholischer Kalilauge unterworfen. Es entstand hierbei, wie bei der nicht bromierten Verbindung, ein *Flavon*derivat, das 2-Brom 3-Aethoxyflavon.

Darstellung des Resacetophenons,



Zur Darstellung des Resacetophenons benutzt man vorteilhaft diejenige Methode, welche im hiesigen Laboratorium von Herrn Dr. Jos. Tambor ausgearbeitet wurde. In mehrere, etwa 300 cm^3 fassende Kolben trägt man je 10 g Resorcin 15 g Eisessig und, unmittelbar vor der Ausführung der Reaktion, 15 g Zinkchlorid ein. Das Gemisch wird $1^1/_2$ Minuten lang gekocht und alsdann mit Wasser versetzt. Das anfangs etwas ölig ausgeschiedene Resacetophenon wird durch Reiben der Wände mit einem Glasstabe zum Krystallisieren gebracht. Der abfiltrierte Niederschlag wird aus salzsäurehaltigem Wasser unter Zugabe von Thierkohle umkrystallisiert. Dieses Verfahren liefert sehr gute Ausbeuten an Resacetophenon, 75—80 % des angewandten Resorcins.

Darstellung des Resacetophenonmonoäthyläthers, [1]

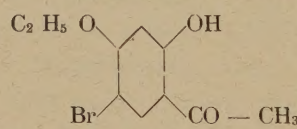


Ein Mol.-Gew. Resacetophenon wird in der vierfachen Gewichtsmenge Alkohol aufgelöst, mit einem Mol.-Gew. Kalihydrat in kleinen Stückchen versetzt und am Rückflusskühler zum Sieden erhitzt; dann wird etwas mehr als ein Mol.-Gew. Aethylbromid langsam hinzugegeben und das Gemisch 24 Stunden lang gekocht.

Das ausgeschiedene Bromkalium wird sodann abfiltriert, der Alkohol abdestilliert und der Rückstand in kalter verdünnter Natronlauge aufgelöst. Das abfiltrierte Natriumsalz des Resacetophenonmonoäthyläthers wird mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt und der in Freiheit gesetzte Resacetophenonmonoäthyläther mit Wasserdämpfen übergetrieben.

Das übergehende, schwach gelb gefärbte Oel erstarrt bald zu farblosen Nadeln, die aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert werden können. Der Schmelzpunkt liegt bei 48 °.

Darstellung des Bromresacetophenonmonoäthyläthers.



Der Bromresacetophenonmonoäthyläther wurde im hiesigen Laboratorium von Rózycki [2] bereits dargestellt.

Die beste Ausbeute erhielt derselbe nach folgendem Verfahren:

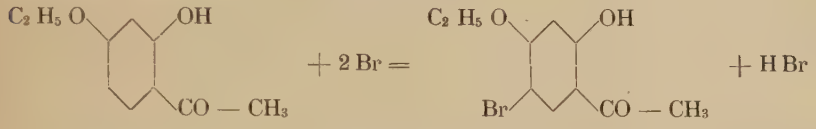
18 g Resacetophenonmonoäthyläther wurden in Eisessig aufgelöst und zu dieser Lösung 16 g Brom langsam hinzugefügt. Man konnte sofort eine reichliche Bromwasserstoffentwickung bemerken. Darauf wurde die Reaktionsflüssigkeit

[1] Ber. 28, 2306.

[2] Dissertation, Bern. 1899.

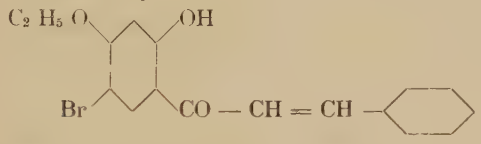
eine halbe Stunde lang auf dem Wasserbade erhitzt, dann mit Wasser versetzt und der ausgeschiedene Bromresacetophenonmonoäthyläther aus Alkohol umkrystallisiert.

Er bildet glänzende, weisse, lange Nadeln vom Schmelzpunkt 110 °. Das Bromatom ist aller Wahrscheinlichkeit nach in die Parastellung zur Hydroxylgruppe eingetreten. Die Bildung des Bromresacetophenonmonoäthyläthers wird demnach durch folgende Gleichung veranschaulicht:



Condensation des Bromresacetophenonmonoäthyläthers mit Benzaldehyd:

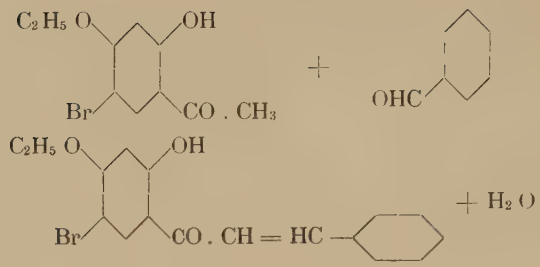
2'-Oxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkon,



Eine warme Lösung von 10 g Bromresacetophenonmonoäthyläther und 5 g Benzaldehyd in 100 g Alkohol wird mit 20 g 50-procentiger Natronlauge versetzt. Nach einigem Stehen an einem warmen Orte beginnt die Ausscheidung von intensiv gelb gefärbten Nadeln, deren Menge rasch zunimmt, sodass das Ganze zu einer festen Masse erstarrt.

Dieselbe besteht aus dem Natriumsalz des 2'-Oxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkons. Man versetzt den Kolbeninhalt mit verdünnter Salzsäure, filtriert und krystallisiert den auf dem Filter gebliebenen Rückstand aus Alkohol oder Eisessig um. Man erhält so orange gefärbte Nadeln vom Schmelzpunkt 165 °. Bei Betupfen mit konzentrierter Schwefelsäure werden die Kryställchen rot, während die Schwefelsäurelösung orange gefärbt erscheint.

Der Körper ist durch Austritt von einem Molekül Wasser aus einem Molekül Bromresacetophenonmonoäthyläther und einem Molekül Benzaldehyd nach folgender Gleichung entstanden:

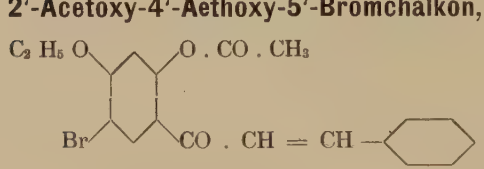


Die Analysen ergaben folgende Resultate:

0,2084 g Substanz lieferten 0,4502 g CO_2 und 0,0769 g H_2O.
0,1820 g » » 0,0999 g Ag Br.

Berechnet für $C_{17}H_{15}O_3Br$:	Gefunden:
C = 58,79	C = 58,91
H = 4,32	H = 4,10
Br = 23,05	Br = 23,35

2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkon,



Diese Acetylverbindung entsteht leicht durch kurzes Aufkochen des 2'-Oxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkons mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat.

Das Reaktionsprodukt wird in Wasser gegossen, in welchem es nach kurzer Zeit zu einer festen Masse erstarrt.

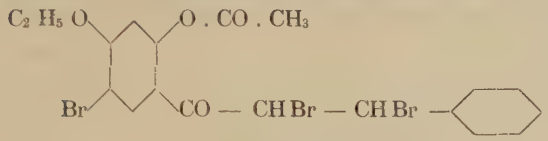
Der Niederschlag wird zerrieben und mit Wasser gut ausgewaschen. Aus Alkohol krystallisiert, liefert er schöne, gelblich gefärbte Täfelchen vom Schmelzpunkt 135 °

Analysen:

0,1875 g Substanz lieferten 0,4018 g CO_2 und 0,0752 g H_2O.
0,2618 g » » 0,1279 g Ag Br.

Berechnet für $C_{19}H_{17}O_4Br$:	Gefunden:
C = 48,61	C = 58,44
H = 4,37	H = 4,45
Br = 20,56	Br = 20,77

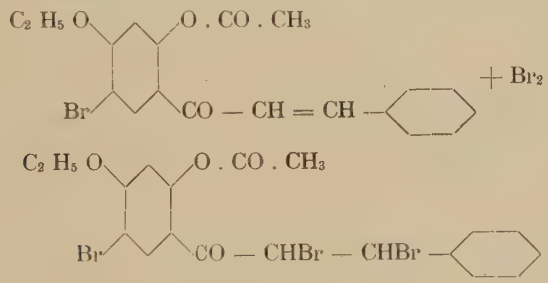
2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkondibromid,



Die obige Acetylverbindung nimmt in Schwefelkohlenstofflösung leicht zwei Bromatome auf. Dabei wurde keine Bromwasserstoffentwickelung bemerkt.

Der nach dem Verdunsten der Lösungsmittels zurückgebliebene Rückstand liefert, aus Alkohol krystallisiert, schöne, weisse Nadeln, die bei 156—157 ° schmelzen.

Dieser Körper ist durch Addition von zwei Atomen Brom an das 2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkon nach folgender Gleichung entstanden:



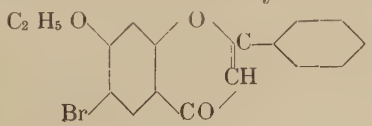
Analysen:

0,1780 g Substanz lieferten 0,2696 g CO_2 und 0,0466 g H_2O.
0,1567 g » » 0,1620 g Ag Br.

Berechnet für $C_{19}H_{17}Br_3O_4$:	Gefunden:
C = 41,53	C = 41.30
H = 3,10	H = 2,91
Br = 43.71	Br = 43,98

Einwirkung von alkoholischer Kalilauge auf das 2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkondibromid:

2-Brom-3-Aethoxyflavon,



Das fein pulverisierte 2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkondibromid wurde in warmem Alkohol gelöst und diese Lösung mit starker Kalilauge versetzt. Es begann alsbald die Ausscheidung von gelb gefärbten Nädelchen, die, abfiltiert und mehrmals aus Benzol umkrystallisiert, schneeweisse, dicke Nadeln vom Schmelzpunkt 187—188 ° liefern.

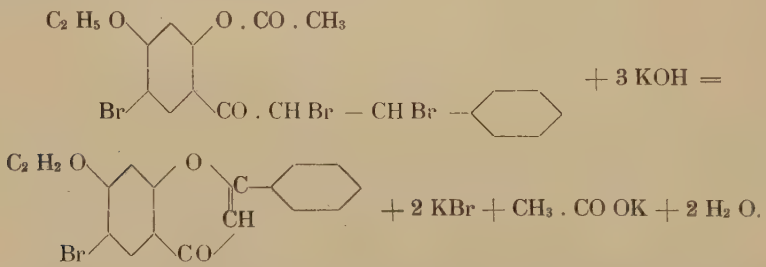
Die Analysen ergaben folgende Resultate:

0,1823 g Substanz lieferten 0,3949 g CO_2 und 0,0648 g H_2O.
0,1567 g » » 0,1620 g Ag Br.

Berechnet für $C_{17}H_{13}O_3Br$:	Gefunden:
C = 59,13	C = 59,08
H = 3,76	H = 3,95
Br = 23,20	Br = 22,98

Die Krystalle werden von concentrierter Schwefelsäure hellgelb gefärbt, während die Schwefelsäurelösung fast farblos erscheint.

Das 2-Brom-3-Aethoxyflavon entsteht aus dem vorher erwähnten 2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-Bromchalkondibromid nach folgender Gleichung:



Den Beweis, dass hier wirklich das 2-Brom-3-Aethoxyflavon vorliegt, habe ich durch Spaltung dieses Körpers mittelst Natriumalkoholat zu liefern versucht.

Spaltung des 2-Brom-3-Aethoxyflavons mittelst Natriumalkoholat.

Ein Gramm 2-Brom-3-Aethoxyflavon wurde mit einer Lösung von 2 g metallischem Natrium in 30 g Alkohol etwa 5 Stunden lang auf dem Wasserbade am Rückflusskühler gekocht. Nach beendigter Reaktion wurde der Alkohol abdestilliert und der Rückstand mit Wasser versetzt, wobei der ganze Kolbeninhalt

in Lösung ging. In diese klare Flüssigkeit wurde Kohlensäure eingeleitet und der entstandene Niederschlag abfiltriert.

Darauf wurde der Niederschlag in Natronlauge aufgelöst, diese Lösung filtriert, das Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Wasserdämpfen behandelt.

Mit denselben ging ein farbloses Oel über, welches bald zu schneeweissen Kryställchen erstarrte, die nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol den Schmelzpunkt 110 ° zeigten.

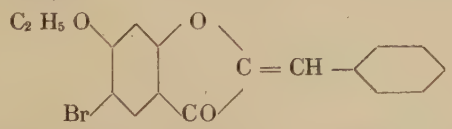
Der Schmelzpunkt dieses Spaltungsproduktes, die Krystallform und das Verhalten gegen verschiedene Lösungsmittel wie Wasser, Alkohol, Eisessig und Benzol lassen keinen Zweifel übrig, dass dieser Körper mit dem Bromresacetophenonmonoäthyläther identisch ist.

Das nach dem Kohlensäure-Einleiten zurückgebliebene Filtrat wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether mehrmals extrahiert. Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieb ein etwas gelb gefärbter Rückstand, der aus Wasser unter Zusatz von Thierkohle in feinen, weissen Blättchen vom Schmelzpunkt 121 ° krystallisierte.

Die Eigenschaften dieses Körpers liessen ihn als Benzoesäure erkennen.

Bei der oben erwähnten Spaltung wurden also Bromresacetophononmonoäthyläther und Benzoesäure erhalten.

Wäre der vorliegende Körper nicht ein Flavonderivat, sondern ein Oxindogenid und zwar das 2-Brom-3-Aethoxybenzalcumaranon,



so könnte man bei jener Spaltung keine alkalilöslichen Produkte erhalten, sondern wie bei allen Oxindogeniden [1] harzige und höchstens zum kleinen Teil alkalilösliche Verbindungen

Diese Spaltung durch Natriumalkoholat, die Farbe der Krystalle und ihr Verhalten gegen concentrierte Schwefelsäure liefern den Beweis, dass der aus 2'-Acetoxy-4'-Aethoxy-5'-

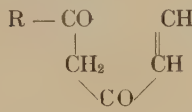
[1] Nach gefl. Privatmitteilung des H. Prof. v. Kostanecki.

Bromchalkondibromid entstandene Körper wirklich das 2-Brom-3-Aethoxyflavon ist.

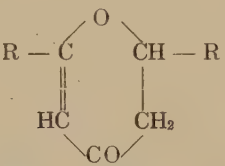
Weitere Versuche zur Darstellung des 3-Aethoxyflavons.

Ich habe noch Versuche ausgeführt, um aus dem 2'-Oxy-4'-Aethoxychalkon auf einem anderen Wege als Emilewicz und v. Kostanecki das β-Aethoxyflavon zu erhalten, in der Absicht, die eventuell gefundene Methode in die Phloroglucinreihe zu übertragen.

Da Claisen [1] angiebt, dass Körper vom Typus:

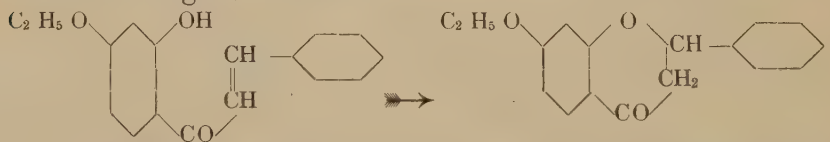


sich leicht in Verbindungen vom Typus

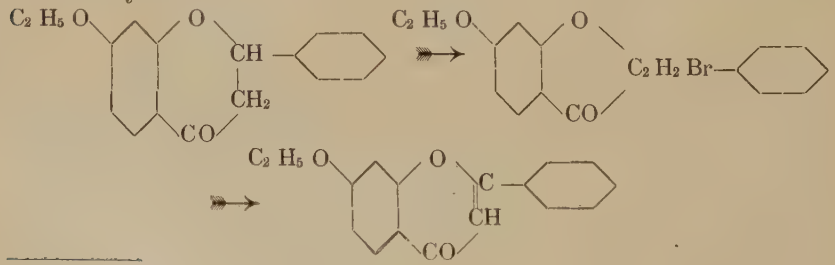


umlagern lassen,

so erschien es nicht unmöglich, dass das 2'-Oxy-4'-Aethoxychalkon durch intramolekulare Umlagerung in das 4'-Aethoxyflavanon übergehen könnte:



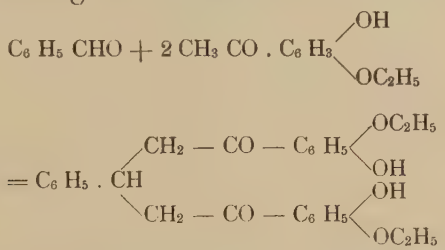
Das gebildete 4'-Aethoxyflavanon könnte sich alsdann nach der Methode von v. Kostanecki, Levi und Tambor [2] in das 4'-Aethoxyflavon verwandeln lassen:



[1] Ber. 19, 218.
[2] Ber. 32, 327.

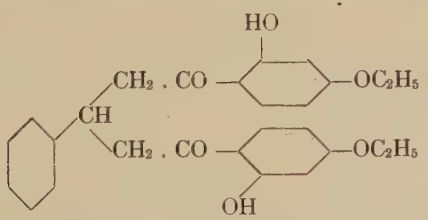
Die zahlreichen zu diesem Zwecke ausgeführten Versuche haben indessen nur negative Resultate ergeben.

Deshalb habe ich weitere Versuche angestellt, den Benzaldehyd mit dem Resacetophenonmonoäthyläther direkt zu einem Flavanonderivat zu condensieren. Es liess sich aus den beiden erwähnten Componenten ein neues Kondensationsprodukt gewinnen, wenn man in die alkoholische Lösung von Benzaldehyd und Resacetophenonmonoäthyläther Salzsäuregas einleitete. Hierbei fiel ein in Alkohol schwer löslicher Körper aus, der jedoch nicht die Zusammensetzung des erwähnten Aethoxyflavanons besass, sondern entsprechend der Formel $C_{27}H_{28}O_6$ zusammengesetzt war. Der Körper war somit aus dem Benzaldehyd und Resacetophenonmonoäthyläther nach folgender Gleichung entstanden:



und darf wohl als ein Diketon von der angegebenen Formel angesehen werden.

Benzal-di-Resacetophononmonoäthyläther.



Zur Darstellung des eben genannten Körpers wird Benzaldehyd (1 Mol.) und Resacetophenonmonoäthyläther (2 Mol.) in Alkohol gelöst und diese Lösung mit trockenem Salzsäuregas gesättigt. Während des Einleitens fällt ein krystallinischer Niederschlag aus, den man behufs vollständiger Abscheidung

sich einige Zeit sammeln lässt, alsdann abfiltriert und mehrmals aus Alkohol umkrystallisiert.

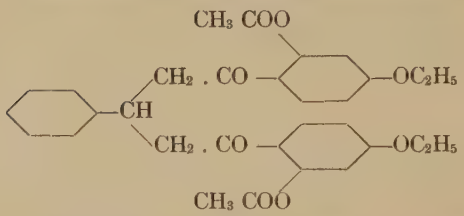
Man erhält so schwach gelbe Nadeln, die bei 211° schmelzen und sich in warmer verdünnter Natronlauge mit gelblicher Farbe lösen. Beim Benetzen mit konzentrierter Schwefelsäure färben sich die Krystalle gelb, während die Schwefelsäurelösung schwach gelb gefärbt erscheint.

Analyse:

0,2213 g Substanz lieferten 0,5893 g CO_2 und 0,1291 g H_2O.

Berechnet für $C_{27}H_{28}O_6$:	Gefunden:
C = 72,32	C = 72,62
H = 6,25	H = 6,48

Darstellung der Acetylverbindung,



Der Benzal-di-Resacetophenonmonoäthyläther liefert beim Acetylieren mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat eine Diacetylverbindung. Dieselbe ist leicht löslich in Alkohol und krystallisiert aus verdünntem Alkohol in weissen Nädelchen, die bei 138—149° schmelzen,

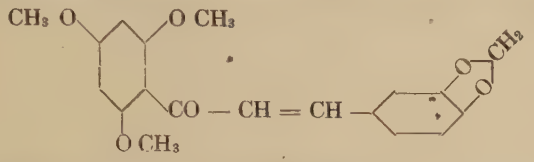
Analyse:

0,1930 g Substanz lieferten 0,4957 g CO_2 und 0,1100 g H_2O.

Berechnet für $C_{31}H_{32}O_8$:	Gefunden:
C = 69,92	C = 70,05
H = 6,01	H = 6,33

Endlich wurden noch verschiedene Versuche angestellt, um den Benzal-Resacetophenondiäthyläther (2', 4'-Diäthoxychalkon) in ein Flavonderivat überzuführen. Leider lieferten diese Versuche negative Resultate. Auch mit dem Piperonal-Phloracetophenontrimethyläther erhielt ich nicht das gewünschte Flavonderivat.

Das 2'-4'-6'-Trimethyl-3-4-Dioxymethylenchalkon,



dessen weiteres, eingehenderes Studium trotz meiner negativen Versuche lohnend erschien, namentlich in Hinblick auf einen möglichen Zusammenhang mit dem Luteolin, wurde auf folgende Weise dargestellt.

10,6 g Benzaldehyd und 24 g Trimethylacetophloroglucin[1] werden in 200 g Alkohol gelöst und 20 g 10 %ige Natronlauge hinzugefügt. Man lässt 24 Stunden stehen, filtriert das ausgeschiedene Trimethoxychalkon ab und krystallisiert es mehrmals aus Alkohol um. Man erhält schwach gelbliche Blättchen, deren Schmelzpunkt bei 140—141° liegt. Diese Kryställchen färben sich beim Betupfen mit konzentrierter Schwefelsäure dunkelrot, während die Schwefelsäurelösung eine gelblich-rote Farbe annimmt.

Die Zusammensetzung des dargestellten 2', 4', 6'-Trimethoxychalkons entspricht der Formel $C_{19}H_{18}O_6$.

Analyse:

0,2115 g Substanz lieferten 0,5162 g CO_2 und 0,0992 g H_2O.

Berechnet für $C_{19}H_{18}O_6$:	Gefunden:
C = 66,66	C = 66,57
H = 5,26	H = 5,21

[1] Ber. 32, 2263.

Beitrag zur

Kenntnis der Hydrolyse von Eiweisskörpern.

Einleitung.

Durch die Auffindung des Lysins in den hydrolytischen Spaltungsprodukten des Caseïns anfangs der neunziger Jahre leitete Drechsel [1] die Chemie der Eiweisskörper in ganz neue Bahnen, auf denen fortschreitend Hedin [2] und in jüngster Zeit Kossel [3] die schönsten Erfolge zu verzeichnen hatten. Während es Schützenberger [4] und Hlasiwetz und Habermann [5] nur gelungen war, bereits bekannte Verbindungen auf einfache Weise aus dem hydrolysierten Eiweiss zu isolieren, gelang es Drechsel, dessen Classicität im Arbeiten zu bekannt ist, als dass sie an dieser Stelle besonders hervorgehoben werden müsste, drei bis dahin noch nicht gekannte Verbindungen aus dem erwähnten Gemisch zu isolieren, nämlich das Lysin, die Diamidoessigsäure und das Lysatin.

---

[1] E. Drechsel. Über ein Spaltungsprodukt des Caseïns. Ber. der k. sächs. Gesellschaft der Wissenschaften. Sitz. vom 1. August 1890. «Zur Kenntnis der Spaltungsprodukte des Caseïns.»

Du Bois-Reymonds Archiv 1891 p. p. 254—260 «Über die Bildung von Harnstoff aus Eiweiss». Ibid. pp. 261—265, Ber. d. Deutsch. chem. Gesell., Bd. XXIII (1890), p. 3096.

[2] Drechsel u. Krüger «Zur Kenntnis des Lysins», Ber. d. Deutsch. chem. Gesell., Bd. XXV (1892), p. 2454.

[3] Kossel. Zeitschrift für physiolog. Chem., Bd. 25, p. 465.

[4] Schützenberger. Ann. Chim. Phys. (5) 16, p. 289 s. a., Bul. Soc. chem. 23, p. 161, 193, 216, 242, 385, 433, 24, p. 2, 145.

[5] Anz. d. Wien. Akad. 1872, pag. 114, ebendas. 1873, Nr. 15, Ann. Chem., Pharm. 169, pag. 150.

Wenngleich späterhin von Hedin die Existenz des Lysatins als eines einheitlichen, chemischen Individuums angezweifelt und es als ein Gemisch von Arginin und Lysin bezeichnet wurde, so bleibt doch das Verdienst Drechsels ungeschmälert, zumal die Nichtexistenz des Lysatins nicht strickt bewiesen werden konnte. Hedin sagt selbst in seiner diesbezüglichen Arbeit: [1]

> «Wohl geht aus meinen Versuchen nicht unzweideutig hervor, dass das Lysatin als chemisches Individuum nicht existiert, aber soviel scheint doch bewiesen zu sein, dass das Lysatinsalz, nach üblichen Methoden dargestellt, beträchtliche Mengen Arginin und Lysin enthalten muss.[2]» *)

Wie dem nun auch sei, Drechsel ist es gelungen, aus diesem Lysatin durch Spaltung desselben mit Barythydrat Harnstoff darzustellen. Somit war es Drechsel, der das Problem, mit dem sich schon zahlreiche Forscher vor ihm beschäftigt hatten, zuerst zur Lösung brachte: «*die Bildung des Harnstoffs aus Eiweiss*». Während Béchamp, Löw und andere, die sich vor Drechsel mit dieser Aufgabe befassten, annahmen, dass der Harnstoff ein Oxydationsprodukt des Eiweiss sei, wies Drechsel nach, dass jener durch *Spaltung* aus dem Eiweiss erhalten werden kann, da das Lysatin ein Spaltungsprodukt des Eiweiss ist. Drechsel bezeichnete nämlich das Lysatin auch als Lysatinin, um dadurch seiner Ansicht über die Konstitution desselben Ausdruck zu geben, indem er diese als dem Kreatin beziehungsweise Kreatinin strukturähnlich hielt, welche Ansicht auch durch das Experiment bestätigt wurde, da die Base, mit Barythydrat erhizt, wie das Kreatin, beziehungsweise

---

[1] Zeitschrift für Physiolog. Chem., Bd. 21, p. 297—305.

[2] Über die Bildung von Harnstoff aus Eiweiss. Bericht d. Deutsch. chem. Gesellschaft, B. 23 1890, S. 3079.

*) **Anmerkung.** Drechsel selbst erklärte sich mit den Resultaten der Hedin'schen Untersuchungen nicht einverstanden und stützte dies auf Untersuchungen, die er nach dem Erscheinen der Hedin'schen Arbeit angestellt hatte. Vielleicht ist auch der Auftrag, den er mir noch wenige Monate vor seinem Tode gab, eine Quantität Argininsalz darzustellen, in unmittelbaren Zusammenhang mit diesen Untersuchungen zu bringen.

Kreatinin unter Kohlensäure-Abspaltung *Harnstoff* lieferte. Späterhin wurde von Schulze und Likiernik [1] nachgewiesen, dass das Arginin durch gleiche Behandlung Harnstoff ergebe. Wohl im Anschluss an seine Hypothese, dass es auf synthetischem Wege vielleicht gelingen könne, mit Hilfe des Lysins Ptomaine darzustellen, stellte Herrn Professor Drechsel mir zu Beginn des Jahres 1896 die Aufgabe, das Lysin und seine Verbindungen zu studieren und zu den bereits bekannten die eine oder andere noch nicht dargestellte hinzuzufügen.

Im Laufe meiner Untersuchungen traten zahlreiche Erscheinungen auf, deren Studium sich mir geradezu aufdrängte, weswegen ich nicht unterlassen konnte, wiederholt von dem mir gestellten Thema abzuschweifen; doch glaube ich, dass dies nicht wertlos war, zumal es mir gelungen ist, eine neue und einfachere Methode der Darstellung des Lysins auszuarbeiten, und da ferner die Methoden zur Darstellung des sauren lysursauren Baryts und des Arginins eine wesentliche Verbesserung erfahren haben. Das Lysin wurde von Drechsel dargestellt, indem er Caseïn durch Salzsäure hydrolisierte, wobei er sich von der Versuchsanordnung von Hlasiwetz und Habermann leiten liess. [2] Er betrachtete es auf Grund späterer Untersuchungen als Diamidocapronsäure, $C_5 H_9 (NH_2)_2 . COOH$. Es steht mit dem von Jaffé entdeckten Ornithin [3] ($C_5 H_{12} N_2 O_2$) in einer Reihe, ist als dessen nächst höheres Homologon anzusehen und zeigt auch die gleiche Eigenschaft wie dieses, leicht eine Dibenzoylverbindung zu liefern, worauf Drechsel späterhin eine Isolierungsmethode des Lysins gründete. [4]

Das Lysin wurde auch aus Leim von Fischer [5] und aus Conglutin von Siegfried [6] dargestellt; letzterer arbeitete auch ein Verfahren zur Isolierung des Lysins aus.

---

[1] Bericht der D. chem. Gesellschaft, Band 24, S. 2701.

[2] Annalen der Chemie und Pharmacie, Band 169, S. 150.

[3] Bericht d. D. chem. Gesellschaft, X 1925.

[4] Bericht d. D. chem. Gesellschaft, Band 28, S. 3189.

[5] Inaugural-Dissertation. Leipzig 1890, Ernst Fischer.

[6] Siegfried, Ber. d. D. chem. Gesell. (1891). Band 24, S. 418.

Hedin [1] stellte späterhin das Lysin nach Siegfrieds Methode aus der Hornsubstanz dar. Seine später ausgearbeitete Methode, das Lysin zu isolieren, beruht auf der Eigenschaft desselben, ein schwerlösliches Silbersalz von der Formel $AgNO_3 + C_6H_{14}N_4O_2$ zu bilden. Nach dieser Methode hat er auch das Lysin aus den Spaltungsprodukten von Albumin aus Eierweiss, Albumin aus Eiergelb, und eingetrocknetem Blutserum dargestellt. [2]

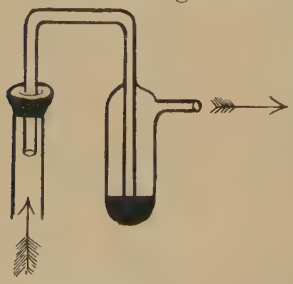
In neuester Zeit ist es Kossel gelungen, aus dem *Salmin* und *Sturin* [3] ebenfalls das Lysin zu isolieren. An Verbindungen des Lysins waren bisher bekannt das Chlorplatinlysin [4], das schon erwähnte Silbersalz des Lysins, $AgNO_3 + C_6H_{14}N_4O_2$, das Lysincarbamat [5] eine Dichlorverbindung, [6] die Lysursäure und eine Reihe von Salzen derselben. [7]

---

[1] Zeitschrift für physiolog. Chemie, Band 21, S. 297.
[2] Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 21, S. 160.
[3] Deutsche Medicin-Wochenschrift 1898, Nr. 37.
[4] » » » » » ».
[5] Bericht d. D. chem. Gesellschaft, Bd. 25, S. 2455.
[6] Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 25, S. 523.
[7] Bericht d. D. chem. Gesell., Bd. 28, S. 3189, Bd. 25, S. 2455, Bd. 28, S. 3190.

Experimenteller Teil.

Ich wählte für meine Hydrolysierungsversuche ein von mir nach der Methode von Hammarsten gereinigtes Caseïn. Dieses Präparat enthält bekanntlich noch reichliche Mengen Fett, welche bei der durch Ansäuern bewirkten Ausfällung des mittelst Natronlauge in Lösung gebrachten Caseïns zu Boden gerissen werden. Diese Fette mussten beseitigt werden, wenn nicht durch dieselben und ihre Zersetzungsprodukte die Isolierung der Spaltungsprodukte des hydrolysierten Eiweisses sehr erschwert werden sollte. Ich unterwarf daher das, wie oben angegeben, ausgefällte Caseïn einer vierzehntägigen Extraktion mit Aethyläther im Drechselschen Extraktionsapparate und befreite es vollständig von Fett. Auf diese Weise gelang es mir, noch 4 % Fett dem Präparate zu entziehen. Ein Kilo von dem so erhaltenen Caseïn brachte ich nun in einen 5-Liter-Kolben und versetzte es mit 2 Liter Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,124, und 60 Gramm Zinnchlorür. Den Kolben brachte ich mit einem gewöhnlichen Kühlrohr in Verbindung, in welches



ich einen Quecksilberverschlussapparat einsetzte, damit die Luft von aussen nicht eintreten könnte. Diese Vorsichtsmassregeln wandte ich an, um die oxydirende Einwirkung der amotsphärischen Luft auf die erhizten Spaltungsprodukte auszuschliessen. Aus demselben Grunde hatte ich vor der Hydrolyse die ganze in dem Kolben enthaltene atmosphärische Luft vertrieben, indem ich 6 Gramm doppelkohlensaures Natron zu dem Gemisch gebracht und auf diese Weise reichlich Kohlensäure entwickelt hatte, sodass ich annehmen konnte, die in dem Kolben enthaltene atmosphärische Luft sei voll-

ständig oder doch annähernd vertrieben. Nun brachte ich den Kolben auf ein Wasserbad, wo ich ihn vorsichtig erhitzte, bis das ganze Caseïn in Lösung gegangen war. Zuerst begann das Caseïn sich aufzublähen, dann löste es sich nach und nach unter Bildung von Acidalbuminen und gleichzeitiger intensiv-violetter Färbung der Flüssigkeit. Nachdem alles vollständig gelöst und die Flüssigkeit durchsichtig war, brachte ich den Kolben auf eine mit gebrannter Magnesia angefüllte Schale und erhizte das Ganze ohne Unterbrechung während 72 Stunden. Als die Lösung ins Sieden geriet, veränderte sie ihre Färbung, indem die violette in Gelb und schliesslich in Dunkelbraun überging. Um nach dem Erkalten des Gemisches festzustellen, ob die Spaltung des Caseïns eine vollständige war, stellte ich mit einer kleinen Probe die Biuretreaktion an, die, wie erwartet, ein negatives Resultat ergab. Der Inhalt des Kolbens stellte eine dicke, dunkelgraue Flüssigkeit von starkem, unangenehmen Geruche dar. Nun verdünnte ich die Masse mit dem fünffachen Volumen Wasser und filtrierte. Auf dem Filter blieb eine schwarze, kohlenähnliche Masse.

Um die Ausfällung des zum Hydrolysierungsgemisch zugesetzten Zinns durch Schwefelwasserstoff möglich zu machen, war es nötig, die Hauptmenge der in der Lösung enthaltenen Salzsäure zu beseitigen. Dies erreichte ich durch Abdampfen und Wiederzugeben von destilliertem Wasser, wobei ich darauf achtete, dass das Abdampfen nicht bis zu allzugrosser Koncentration fortgesetzt wurde, da sonst die Gefahr der Oxydationswirkung der atmosphärischen Luft wieder in Frage gekommen wäre. Nachdem ich durch wiederholtes Abdampfen und Nachfüllen von Wasser während 14 Tagen die Salzsäure aus der Flüssigkeit möglichst entfernt hatte, leitete ich in dieselbe Schwefelwasserstoff ein, bis das Zinn vollständig ausgefällt war. Nun filtrierte ich den Inhalt des Kolbens und verdampfte das klare Filtrat auf dem Wasserbade bis zum dritten Teile seines Volumens. Nachdem ich das Gemisch in einer Porcellanschale bis zum Sieden erhitzt hatte, versetzte ich dasselbe mit einer gleichfalls siedenden Mischung von Phosphorwolframsäure mit 5 % (vom Gewicht der letzteren) Schwefelsäure. Die verwandte

Phosphorwolframsäure wurde dargestellt, indem ich gleiche Teile wolfraumsaures Natron und phosphorsaures Natron in concentrierten Lösungen mischte, hierauf mit Schwefelsäure neutralisierte, aufkochte, mit Kalilauge schwach alkalisch machte und das schwefelsaure Natron auskrystallisieren liess. Die Mutterlauge wurde hierauf mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Aether im Scheidetrichter gut durchgeschüttelt, wodurch die Phosphorwolframsäure, in Aether gelöst, als ölige Masse zu Boden fiel. Dieses Oel wurde hierauf von der wässerigen Lösung getrennt und unter Zusatz von Bromwasser (um die Reduktion der Phosphorwolframsäure zu verhindern) auf dem Wasserbade eingedampft.

Voruntersuchungen, die ich angestellt hatte, um annähernd quantitativ feststellen zu können, in welchem Verhältnisse oben genannte Mischung die Spaltungsprodukte des Eiweisses fälle, haben erwiesen, dass sieben Teile Phosphorwolframsäure einen Teil derselben auszufällen vermögen. In dieser Art verläuft die Reaktion, wenn beide auf einander wirkenden Substanzen bei Siedetemparatur zusammengebracht werden; wenn dieselben aber im kalten Zustande auf einander wirken, so ergeben sich andere Resultate. Es entsteht dann ein amorpher, weisslicher Niederschlag, welcher infolge seiner physikalischen Eigenschaften schwer durch Filtration zu trennen und auszuwaschen ist, während im ersteren Falle der Niederschlag krystallinisch und die Trennung vom Filtrate sehr leicht zu bewirken ist. Den auf das Filter gebrachten Niederschlag wusch ich sorgfältig aus, jedoch nicht mit Wasser, da er in Wasser etwas löslich ist, sondern mit einer 10 %igen Lösung von Phosphorwolframsäure, welche ich schwach mit Schwefelsäure angesäuert hatte. In diesem Gemisch ist der Phosphorwolframsäure-Niederschlag vollständig unlöslich. Das Auswaschen wurde solange fortgesetzt, bis die Waschflüssigkeit keine Spur von Salzsäure mehr enthielt.

Auf diese Weise erhielt ich eine nur schwach gelblich gefärbte, weiche Masse, die sich als in heissem Wasser zum Teil löslich erwies, während ein anderer Teil trotz andauernden Kochens mit reichlichen Mengen Wasser vollständig ungelöst

blieb. Dieses verschiedene Verhalten des Niederschlages gegenüber siedendem Wasser führte mich zu einer einfachen Trennungsmethode der verschiedenen durch Phosphorwolframsäure ausgefällten Substanzen, die sich durch ihre Krystallisation von einander unterscheiden, indem die eine, welche sich später als Lysinverbindung erwies und wasserlöslich ist, eine deutlich krystallinische, dagegen die andere, in Wasser unlösliche, eine mehr amorphe Struktur zeigt. Ich nahm nun die Trennung in der angegebenen Weise vor, indem ich den Niederschlag längere Zeit mit einer reichlichen Menge destillierten Wassers erhitzte, dann durch ein auf einem Dampftrichter befindliches Filter schnell filtrierte und diese Manipulationen des Aufkochens und Filtrierens noch einige Male wiederholte. Erwähnt sei, dass durch die Phosphorwolframsäure anscheinend noch andere Substanzen gefällt wurden, deren chemische Individualität mir leider unbekannt blieb. Auf dem Filter verblieb schliesslich das phosphorwolframsaure Lysatin respektive Arginin, während das phosphorwolframsaure Lysin aus dem Filtrate nach einigem Stehen auskrystallisierte. Letzteres trennte ich durch Filtrieren von der Mutterlauge, brachte es in eine Porcellanschale und mischte es mit Wasser zu einem Brei, den ich nun bei Siedetemperatur mittelst concentrierten Barytwassers zersetzte. Die Reaktion kann man als beendet betrachten, wenn der so entstandene Niederschlag eine intensiv blaue Färbung annimmt. Die Zugabe von Aetzbaryt muss sehr vorsichtig vorgenommen werden, da ein kleinerer Ueberschuss desselben zu dieser Reaktion unbedingt notwendig ist. Ein zu grosses Quantum von Aetzbaryt verrät sich sofort durch Ammoniakgeruch. Derselbe wird hervorgerufen durch die Dekomposition der oben genannten Basen, während Lysursäure, in der beide Amidogruppen durch Benzoylgruppen geschützt sind, auch bei hohen Temperaturen durch dieses Reagens nicht zersetzt wird. Den Ueberschuss von Aetzbaryt entfernte ich sodann, indem ich in das Gemisch einen Strom von Kohlendioxyd einleitete, bis sich das entstandene Baryumcarbonat gänzlich abgesetzt hatte. Nach der Filtration dampfte ich das nur noch Lysin enthaltende Filtrat bis zur Syrupdicke ein. Aus

dieser dicken Flüssigkeit bekam ich zwar keine Krystalle, doch bewies die Verbrennung einer kleinen Probe auf dem Platinblech die Gegenwart anorganischer Salze. Zur Trennung des Lysins von Salzen und etwaigen anderen Verunreinigungen, benutzte ich die Methode der Benzoylierung nach Schotten-Baumann. Um ungefähr zu wissen, wieviel Lysin in dem Substanzgemisch enthalten war, wurde folgendes Verfahren eingeschlagen: Ich verdünnte die Lysin enthaltende Flüssigkeit mit Wasser bis auf 100 cm^3, hiervon 1 cm^3 weiter bis auf 10 cm^3 und titrierte diese Lösung mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure. Als Indikator wurde Lakmus verwendet.

Dieses Verfahren, das in dem Gemisch enthaltene Lysin annähernd quantitativ zu bestimmen, basiert auf der Eigenschaft des Lysins als Base eine Salzsäureverbindung zu liefern, die in genauem, molekularen Verhältnisse Salzsäure angelagert enthält. Empirisch wurde festgestellt, dass 0,2 Lysin 5,6 cm^3 $^1/_{10}$ Normalsalzsäure zur Neutralisierung bedürfen. Da ich zur Titration von 1 cm^3 8,4 cm^3 $^1/_{10}$ Normalsalzsäure gebraucht hatte, so konnte ich daraus schliessen, dass die zur Verarbeitung übrig bleibenden 99 cm^3 annähernd 30 Gramm Lysin enthielten. Zur Benzoylierung versetzte ich die Lösung bis zur genauen Neutralisation mit Salzsäure, fügte hierauf die berechnete Menge von 91,8 cm^3 10 % Natronlauge und 15,84 Gramm Benzoylchlorid zu und schüttelte wiederholt in der Kälte durch. Die Reaktion verlief ziemlich glatt, die Temperatur stieg etwa auf 20 Grad Celsius. Auf Grund wiederholter Erfahrung konnte ich feststellen, dass die Natronlauge beim Erhitzen auf Lysin sowohl wie auf dessen benzoylierte Derivate, ganz energisch einwirkt, während Lysinsäure, mit Barythydrat auf 150 Grad erhitzt, nicht zersetzt wird. Die starke Einwirkung von Natronlauge auf Lysin und auf dessen benzoylierte Derivate erschwert in sehr unangenehmer Weise die Krystallisation der Lysursäure, indem durch Zersetzung des Lysins wahrscheinlich zahlreiche Spaltungsprodukte gebildet werden. Leider habe ich erst nach Schluss meiner Arbeit günstigere Bedingungen für die Benzoylierung des Lysins gefunden, indem ich statt der Natronlauge Pyridin verwendete, wobei dieses die freiwerdende

Salzsäure bindet.[1] Die so erhaltene alkalische Lösung, welche Lysursäure in Form ihres Natronsalzes enthielt und ziemlich dunkel gefärbt war, habe ich filtriert und einige Zeit auf dem Wasserbade erhitzt, damit sich etwaige Beimengungen von nicht in Aktion getretenem Benzoylchlorid zersetzen. Diese erhitzte Lösung versetzte ich so lange mit Salzsäure, bis deutlich saure Reaktion auf Congo eintrat. Durch den Zusatz von Salzsäure im Ueberschuss entstand bald eine Trübung die an Intensität immer mehr zunahm und sich schliesslich als öliger Niederschlag absetzte. Nach vierundzwanzigstündigem Stehen hatten sich neben diesem Oele noch prächtig ausgebildete, farblose Krystalle abgesetzt, deren Identität mit Benzoësäure ich durch Bestimmung des Schmelzpunktes und der Löslichkeit nachwies; diese Benzoësäure stammte natürlich aus dem *im Ueberschuss* zugesetzten Benzoylchlorid. Den im Kolben gebliebenen öligen Niederschlag wusch ich mit Wasser aus und erhielt so eine harzige, stark braun gefärbte Substanz. Die Lysursäure erhitzte ich in einem Kolben mit etwas destilliertem Wasser auf dem Wasserbade. Dann versetzte ich dieselbe vorsichtig mit 10 % Natronlauge, bis sich das Oel vollständig auflöste, und erhielt so eine Lösung des Natriumsalzes der Lysursäure, welche ich mit einer concentrierten Lösung von Baryumchlorid versetzte und zwar im Ueberschuss; dann erhitzte ich bis zum Kochen und versetzte endlich diese Lösung mit verdünnter Salzsäure bis zur augenscheinlichen Reaktion auf Congo, wodurch das lysursaure Baryum als saures Salz ausgefällt wurde. Nach Drechsel soll durch das Ansäuern mit Salzsäure das saure lysursaure Baryum in der Weise zur Krystallisation gelangen, dass der ganze Inhalt des Kolbens plötzlich zu einer krystallinischen Masse erstarrt. Diese End-Reaktion blieb aber leider aus und auch nach wochenlangem Stehen trat kein Krystallisieren des ausgefallenen Oeles ein. Prof. Drechsel, den ich deshalb befragte, teilte mir mit, dass er selbst gerade mit der Ausführung dieser Reaktion wiederholt

[1] Vergl. z. B. Deninger, Bericht d. D. chem. Gesell. 28, 1824 u. Einhorn, Ann. der Chemie, 301, 95.

Schwierigkeiten gehabt habe. Auf sein Anraten verfuhr ich daher in der Weise, dass ich durch Zusetzen von Natriumcarbonat das Baryumsalz zersetzte, aus dem Natriumsalz durch Ansäuern die freie Lysursäure darstellte, dieselbe so gut als möglich durch Auswaschen auf dem Wasserbade und Decantieren von dem verunreinigenden Chlornatrium befreite, und so lange Barytwasser zusetzte, bis alles in Lösung gegangen war. Das Barythydrat, auch in grossem Ueberschuss zugesetzt, wirkt nämlich auf die Lysursäure nicht zersetzend, sondern fällt nur die Farbstoffe und andere unbekannte Verbindungen aus dieser Lösung aus, die nach 24-stündigem Stehen durch Decantieren und Filtrieren leicht entfernt werden können. Ich erhielt so eine Lösung des neutralen Baryumsalzes der Lysursäure. Zur Darstellung des sauren lysursauren Baryums verfuhr ich folgendermassen:

Ich teilte die erhaltene Lösung in zwei gleiche Teile *A* und *B* und setzte zu *A* unter Erhitzen auf dem Wasserbade so lange verdünnte Salzsäure zu, bis das Gemisch stark auf Congo reagierte und sich ein dichter, braun gefärbter, öliger Niederschlag abgesetzt hatte, der aus freier Lysursäure bestand. In die zweite Portion *B* leitete ich so lange Kohlensäure ein, bis jene neutral reagierte, also der Ueberschuss an Barythydrat in Baryumcarbonat übergeführt war. Nun wurde Lösung *B* durch Filtration von Baryumcarbonat befreit, mit der in möglichst wenig heissem Alkohol gelösten, freien Lysursäurelösung *A* gemischt und erkalten gelassen. Da nach der Mischung dieser beiden Lösungen keine Krystallisation oder nur Ausscheidung von Krystallen in verschwindender Menge erfolgte, so sah ich mich veranlasst, die Mischung auf dem Wasserbade einzudampfen und bei 110 Grad bis zur Gewichtskonstanz zu trocknen, um auf diese Weise ein krystallwasserfreies, leicht in Alkohol lösliches Salz zu erhalten. Der erhaltene Trockenrückstand wurde hierauf fein gepulvert und in zwei Volumina absolutem Alkohol aufgelöst.

Drechsel giebt nun an, dass in seiner alkoholischen Lösung des sauren lysursauren Baryums ein Zusatz eines gleichen Volumens Wasser ein sofortiges Erstarren der ganzen Flüssig-

keit hervorruft. Wiederholt habe ich mit geringen Mengen versucht, auf diese Weise ein krystallisiertes Salz zu erhalten, stets aber blieb der gewünschte Erfolg aus oder trat nur teilweise ein. Ich verfuhr also in der Weise, dass ich ganz allmählich der Gesamtmenge der alkoholischen Lösung des wasserfreien Salzes geringe Mengen destillierten Wassers bis zur bleibenden Opalescenz zusetzte.

Nach mehrtägigem Stehen hatte sich wiederum ein öliger Niederschlag abgeschieden, der erst nach einem Monat krystallinisch erstarrte. Ich setzte nun weiter ganz allmählich Tag um Tag Wasser zu und erhielt so nach einiger Zeit die ganze Menge des sauren lysursauren Baryts schön krystallisiert aus der Lösung. Das so erhaltene, bei 110 Grad getrocknete Präparat wurde nun in einer möglichst geringen Menge absoluten Alkohols gelöst und nach Drechsels Methode mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers ausgefällt. Nach dem Auswaschen des Krystallbreies mit geringen Mengen schwachen Alhohols und nachher mit destilliertem Wasser (um etwa noch anhaftende, anorganische Salze zu beseitigen), erhielt ich ein wesentlich weisseres Präparat, das nach wiederholtem Umkrystallisieren in der angegebenen Weise schliesslich ein schneeweisses, sehr voluminöses, krystallinisches Pulver darstellte.

Analysen:

I. 0,2860 g Substanz gaben 0,6472 g Kohlendioxyd und 0,1460 g Wasser.

II. 0,2740 g Substanz gaben 19 cm^3 feuchten Stickstoff bei 19 Grad und 718 mm Druck.

III. 0,2020 g Substanz gaben 0,0298 g Bariumsulfat.

	Gefunden:			Berech. für
	I.	II.	III.	$C_{80}H_{86}N_8O_{16}Ba$
C	61,71	—	—	61.90
H	5,67	—	—	5,546
N	—	7,52	—	7,221
Ba.	—	—	8,67	8,833

Darstellung der freien Lysursäure.

Um aus dem dargestellten sauren lysursauren Baryt zur freien Lysursäure zu gelangen, musste ich eine Methode einschlagen, die mir bei Lieferung eines möglichst reinen, baryumfreien Präparates doch auch eine gute Ausbeute ermöglichte. Ich beschloss daher das Barytsalz durch ein kohlensaures Alkalisalz zu zersetzen, um auf diese Weise einer Verunreinigung des darzustellenden Präparates mit Baryt, welcher als in Wasser unlösliches Baryumcarbonat ausfällt, aus dem Wege zu gehen. Ich setzte daher zu der ganzen, in destilliertem Wasser suspendierten Menge des lysursauren Baryts eine conzentrierte Lösung von kohlensaurem Natron in starkem Ueberschuss und erhitzte auf dem Wasserbade. Auf diese Weise ging die Lysursäure als leicht lösliches Natronsalz in Lösung; sie wurde durch Filtration von dem kohlensauren Baryt befreit. Die freie Säure wurde aus der Lösung des Natronsalzes hierauf in der Weise erhalten, dass ich die Lösung zum Sieden erhitzte und mit verdünnter Salzsäure versetzte, bis eine starke Reaktion auf Congo eintrat. Allmählich fing die ursprünglich trübe Flüssigkeit an sich zu klären, und auf dem Boden des Kolbens setzte sich ein schwach gefärbter, öliger Niederschlag ab, der nach dem Erkalten des Gemisches feste Konsistenz annahm. Da die freie Lysursäure in heissem Wasser ein wenig löslich ist, so nahm ich die Auswaschung der dem Präparate noch anhaftenden Mutterlauge mit kaltem Wasser vor. Die schliesslich bei 110 Grad getrocknete und pulverisierte Lysursäure löste ich in absolutem Alkohol unter schwachem Erwärmen auf. Zu dieser Lösung setzte ich nach dem Erkalten geringe Mengen von destilliertem Wasser bis zur schwachen Trübung. Nach 24-stündigem Stehen hatte sich am Boden des Kolbens eine kompakte, krystallinische Masse ausgeschieden, die auf wiederholten weiteren Zusatz von Wasser zunahm. Den Zusatz von Wasser habe ich solange fortgesetzt, bis eine Probe der Mutterlauge auch nach 24-stündigem Stehen nichts mehr ausschied. Nach diesem Verfahren erhielt ich ein beinahe schneeweisses Präparat, das ich, um es unbedingt analysenrein darzustellen, noch einmal der gleichen Operation, Auflösen in

absolutem Alkohol, Fällen mit destilliertem Wasser etc. unterzog. Das so erhaltene Präparat schmolz, nachdem es bei 110 Grad bis zum konstanten Gewicht getrocknet war, zwischen 140 und 150 Grad.

Analyse:

0,2830 g Substanz gaben 0,7014 g Kohlendioxyd und 0,1592 g Wasser.

Gefunden:	Berech. für $C_{20}H_{22}N_2O_4$:
C 67,57 %	67,79 %
H 6,25 %	6,22 %

Da die aus obigen Analysenresultaten berechnete Formel $C_{20}H_{22}N_2O_4$ mit der von Drechsel für Lysursäure aufgestellten übereinstimmt, ausserdem aber der Schmelzpunkt von dem von Drechsel angegebenen nicht abweicht, so kann ich annehmen, dass es mir gelungen war, wirklich das von Drechsel unter dem Namen Lysursäure beschriebene Präparat rein dargestellt zu haben.

Lysursäure ist ein schneeweisses und sehr voluminöses Pulver, das unter dem Mikroskop aus flachen, farblosen Blättchen besteht. In heissem Wasser lösen sich nur Spuren (0,5 %), die nach dem Abkühlen wieder auskrystallisieren; in Alkohol und Aether ist die Lysursäure sehr leicht löslich. Sie bietet eigentlich, da sie ja kein direktes Zersetzungsprodukt der Eiweisskörper ist, sondern nur zur Isolierung des Lysins dient, kein unmittelbares Interesse. Um von der Lysursäure zum Lysin zu gelangen schlug ich die auch von Drechsel immer angewandte Methode zur Abspaltung der Benzoylgruppen ein, indem ich folgendermassen verfuhr:

Versuch zur Darstellung von Lysin.

90 Gramm reine Lysursäure brachte ich in eine tubulierte Retorte und setzte conzentrierte Schwefelsäure in reichlicher Menge zu, wodurch die Lysursäure mit schwacher Gelbfärbung in Lösung ging. Dieses Gemisch verdünnte ich mit ungefähr dem gleichen Volumen destillierten Wassers und leitete durch den Tubus der Retorte überhitzten Wasserdampf ein, welcher

die durch Verseifung mit Schwefelsäure frei gewordene Benzoesäure übertrieb, während in der Retorte Lysinsulfat und freie Schwefelsäure zurückblieben. Die Destillation wurde nun so lange fortgesetzt, bis das Destillat auf Lakmus nicht mehr reagierte. Nach dem Erkalten schieden sich in der Vorlage prächtige Krystalle von Benzoesäure aus.

Um den Rückstand in der Retorte auf die freie Base zu verarbeiten, wurde derselbe mit der ungefähr fünfzehnfachen Menge Wasser verdünnt und die Schwefelsäure durch Barythydrat ausgefällt. Die nach dem Erhitzen zur Siedetemperatur klar gewordene Flüssigkeit wurde filtriert, zur Syrupkonsistenz eingedampft und über Schwefelsäure in ein Vacuum gebracht. Nach mehrtägigem Stehen erstarrte der Syrup zu einer krystallinischen Masse von wachsartigem Aussehen, welche beim Stehen an der Luft mit grosser Begierde Kohlendioxyd aufnahm. Das Lysin hat nämlich, wie alle starke Basen, eine sehr grosse Affinität zu Kohlendioxyd; daher ist es mir auch nicht gelungen, die freie Base darzustellen, sondern ich erhielt stets eine Verbindung, die augenscheinlich Kohlensäure enthielt. Drechsel und Krüger [1] erhielten ebenfalls eine Verbindung von Lysin mit Kohlensäure, als sie Lysindichlorhydrat mit Schwefelsäure erhitzten, letztere durch Barythydrat ausfällten und das Gemisch eindampften. Nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Wasser gelang es mir, die erhaltene Substanz als schneeweisse Masse darzustellen, deren Analyse mit den von Drechsel erhaltenen Zahlen übereinstimmt.

Analysen:

0,2350 g Substanz gaben 0,4012 g Kohlendioxyd und 0,1790 g Wasser.

Gefunden:	Berech. für $C_{13} H_{28} O_6 N_4$:
C 46,55 %	47,430 %
H 8,465 %	8,335 %

Ich gehe also wohl nicht fehl, wenn ich die vorstehend beschriebene Verbindung nach Drechsel als **Lysincarbaminsaures Lysin,** $C_6 H_{12} O_2 N. NH. CO. O. NH_3 C_6 H_{12} O_2 N$, bezeichne

[1] Drechsel u. Krüger, Ber. 25, 2455.

Nur kann ich Drechsels Angabe, dass obige Verbindung beim Erhitzen im kohlensäurefreien Luftstrome auf 110 Grad sämtliche Kohlensäure abgebe, nicht bestätigen. Ich fand wenigstens, dass auch nach längerem Erhitzen in der angegebenen Weise eine reichliche Menge Kohlendioxyd von dem Präparate festgehalten wurde, was sich durch Zusatz von Säure leicht konstatieren liess. Meine Absicht ging nun dahin, von dem Lysincarbonat zu dem Monochlorhydratlysin und dem Dichlorhydratlysin zu gelangen, doch hatte ich in diesem Stadium meiner Untersuchung das Unglück, dass durch Unvorsichtigkeit eines Dritten, die Kolben, in denen sich die Hauptmengen der dargestellten Präparate befanden, zerbrochen wurden. Da ich bei Beginn meiner Arbeit die Absicht hatte, eine möglichst grosse Menge Lysin darzustellen, um mit dieser Base dann weitere Untersuchungen anzustellen, war ich gezwungen, nochmals ein Hydrolyse auszuführen, doch beschloss ich, da die Abscheidung der basischen Spaltungsprodukte nach Drechsel durch Phosphorwolframsäure ungemein zeitraubend ist, an dem bisher eingeschlagenen Verfahren einige Modifikationen vorzunehmen, um auf diese Weise womöglich schneller und einfacher zu meinem Ziele zu gelangen. Ich behielt auch diesmal wieder die von Hlasiwetz und Habermann[1] angegebene Versuchsanordnung bei. Im Verlaufe dieser Untersuchungen traten mancherlei Erscheinungen auf, die ich zu untersuchen nicht unterlassen konnte. Wenn dabei auch im Wesentlichen nichts Neues gefunden wurde, so möchte ich doch meine Resultate hier ausführlicher beschreiben, da durch dieselben die Arbeiten der vorgenannten Autoren und die von Cohn[2] eine Bestätigung erfahren.

Zweite Hydrolyse.

Wiederum kam 1 Kilo nach Hammarsten dargestelltes und nachher mit Aether extrahiertes Caseïn zur Verwendung, das ich mit 2 Liter reiner, koncentrierter Salzsäure versetzte,

[1] Annal. d. Ch. u. Ph., 169, S. 150.

[2] Cohn. Ueber eine quantitative Eiweissspaltung durch Salzsäure. Zeitschr. f. physiolog. Chem., Bd. 22, S. 153.

in den schon beschriebenen Apparat brachte und wie oben behandelte, auch wieder von Salzsäure durch Abdampfen fast befreite, indem ich wiederholt Wasser nachfüllte.

Durch Zusatz einer Lösung von basischem Bleiacetat wurde der die Flüssigkeit ziemlich intensiv färbende Farbstoff ausgefällt; dann wurde der Niederschlag abfiltriert und die Flüssigkeit durch Schwefelwasserstoff vom Zinn befreit. (Hierbei ist zu beachten, dass der Schwefelwasserstoff, um vollständige Fällung zu erreichen, sehr lange Zeit eingeleitet werden muss). Die nach der Filtration fast wasserhelle Lösung engte ich auf ein Volumen von zwei Litern ein und konstatierte, dass sich nach mehrtägigem Stehen aus derselben ein feiner krystallinischer Niederschlag abschied, der allmählich wesentlich zunahm. Diesen Niederschlag bezeichne ich als *Niederschlag A*. Ich filtrierte denselben ab und concentrierte das Filtrat bis auf ungefähr einen halben Liter, worauf nach längerem Stehen wiederum ein reichliche Krystallisation erfolgte, deren mikroskopisches Bild wesentlich von dem des Niederschlages *A* abwiech. Diese zweite Krystallisation bezeichne ich als *Niederschlag B*. Das Filtrat vom Niederschlag *B* koncentrierte ich bis zur Syrupkonsistenz (200 cm^3 Volumen) und versetzte es dann mit 800 cm^3 absolutem Alkohol, worauf sich ein stark gefärbtes Oel zu Boden setzte, welches ich durch Decantation von der darüber stehenden Mutterlauge befreite. Diesen öligen Niederschlag bezeichne ich als *C*. Von diesen drei nacheinander erhaltenen Fraktionen nahm ich zuerst Fraktion *A* in Arbeit, die ich in der Weise umkrystallisierte, dass ich sie mit 70 %igem Alkohol übergoss, mit Ammoniak deutlich alkalisch machte, aufkochte und heiss filtrierte. Sofort mit der beginnenden Abkühlung fing das Filtrat zu krystallisieren an und setzte nach und nach eine dicke Krystallschicht an Boden und Wandungen des Gefässes ab, die noch ziemlich stark gefärbt erschien. Nach wiederholter Behandlung in der vorstehend angegebenen Weise, gelang es mir, obgleich ich immerhin Verluste an Material hatte, das Präparat als schneeweisse, seidenglänzende Nadeln zu erhalten, deren mikroskopisches Bild farblose, besenförmig angeordnete Naden von der Art

des Tyrosins aufwies. Der Schmelzpunkt dieser Substanz, der bei 295 Grad lag, zeigte ebenfalls mit dem des Tyrosins genaue Uebereinstimmung. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

Analysen:

0,2210 g Substanz gaben 0,4820 g Kohlendioxyd und 0,1193 g Wasser.

Gefunden:	Berech. für $C_9H_{11}NO_3$:
C 59,50 %	59,67 %
H 5,99 %	6,077 %

Diese Analyse beweist, dass der Niederschlag *A* thatsächlich im Wesentlichen aus *Tyrosin* bestand und auch das Eintreten der Piria'schen Reaktion[1] unterstützt diesen Befund. Die Menge des erhaltenen analysenreinen Tyrosins kann ich auf ungefähr 4 % vom zur Hydrolyse verwandten Caseïn angeben.

Die Untersuchung der Niederschlages *B* führte ich in der Weise aus, dass ich denselben in Wasser löste, mit Thierkohle aufkochte, filtrierte, mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaktion versetzte und hierauf Bleiessig in starkem Ueberschuss zusetzte. Hierdurch wurde erreicht, dass die die Lösung noch verunreinigenden Farbstoffe, Asparaginsäure, Glutaminsäure und die anderen, für meine Untersuchung nicht in Frage kommenden Spaltungsprodukte ausgefällt wurden. Das durch Schwefelwasserstoff entbleite Filtrat wurde zur Syrupkonsistenz abgedampft, mit 70 %igem Alkohol ausgefällt, nochmals in Wasser gelöst, und die Ausfällung mit Bleiessig etc. noch einmal wiederholt. Auf diese Weise erhielt ich einen schneeweissen Körper, dessen mikroskopisches Bild, sowohl die bekannten Leucinkugeln, als auch feine, glänzende Täfelchen und Blättchen zeigte.

Analysen:

I. 0,2150 g Substanz gaben 0,4315 g Kohlendioxyd und 0,196 g. Wasser.

II. 0,1175 g Substanz gaben 11,6 ccm Stickstoff bei 718 mm Druck und 18 Grad Celsius.

---

[1] Ann. der Chem. u. Pharm. 82, S. 252.

Gefunden:		Berech. für $C_6 H_{13} O_2 N$:
I.	II.	
C 54,74 %	—	54,95 %
H 10.12 %	—	9,92 %
N —	10,74 %	10,69 %

Die Zahlen, welche vorstehende Analyse ergiebt, stimmen mit den theoretisch aus der Leucinformel berechneten überein; ausserdem glaube ich sowohl auf Grund des Schmelzpunktes von 292 Grad — die Bestimmung wurde im zugeschmolzenen Röhrchen vorgenommen — als auch der vollständigen Sublimirbarkeit des Präparates, bei welcher der charakteristische Alaningeruch auftrat, nicht fehlzugehen, wenn ich annehme, dass das Präparat aus reinem Leucin bestand. Die auf die Menge des in Arbeit genommenen Caseïns berechnete Gesamtmenge des erhaltenen Leucins machte ungefähr 32 % aus.

Hierauf ging ich an die Verarbeitung der Fraktion *C*, die die Hauptmenge der Drechselschen Basen enthielt. Wie schon oben bemerkt, repräsentierte dieselbe einen stark braun gefärbten, öligen Niederschlag, den ich mit ungefähr 100 cm^3 Wasser zur Lösung brachte. Während ich nun bei meinem ersten Hydrolisierungsgemisch nach der Drechselschen Methode die Fällung der Basen mit Phosphorwolframsäure bewerkstelligte, die erhaltenen phosphorwolframsauren Verbindungen mit Barythydrat in der Hitze zersetzte und erst hierauf die Benzoylierung des Lysins vornahm, wollte ich in diesem Falle einen einfachen Weg, nämlich den der direkten Benzoylierung einschlagen. Die Isolierung der Basen durch Phosphorwolframsäure bietet nämlich insofern grosse Schwierigkeiten, als die Reinigung des Niederschlages durch Auswaschen und Umkrystallisieren ungemein viel Zeit und Mühe erfordert. Der in Rede stehende Niederschlag ist nämlich enorm schwer löslich und das auch nur in stark siedendem Wasser, so dass diese Manipulation thatsächlich Wochen angestrengter Thätigkeit erforderte. Ausserdem fällt auch die grosse Kostspieligkeit der Phosphorwolframsäure hier ins Gewicht. Um die direkte Benzoylierung der Fraktion *C* vornehmen zu können, war es nötig, die als salzsaure Salze in dem Gemisch enthaltenen

Basen in die freien Basen überzuführen. Zu diesem Zwecke erwärmte ich die Lösung auf circa 40 Grad und versetzte sie so lange mit kleinen Portionen frisch gefällten Silberoxyds, bis eine Bildung von Chlorsilber nicht mehr stattfand. Zu dieser Reaktion verwandte ich Silberoxyd, weil ich im Laufe meiner Arbeit die Erfahrung gemacht hatte, dass kaustische Alkalien auf das Lysin äusserst energisch unter Ammoniakentwicklung einwirken.

Durch den Zusatz des Silberoxyds erreichte ich erstens die fast vollständige Befreiung des Gemisches von Salzsäure; zweitens wurden aber auch die vorher als Salzsäureverbindungen vorhandenen Basen in die freien Basen übergeführt. Der Umstand, dass ein Teil des Silberoxyds als Chlorsilber in Lösung ging, konnte nicht als störend angesehen werden, da die Ausfällung dieses Metalls durch Schwefelwasserstoff keinen Schwierigkeiten begegnet. Nachdem durch Filtration die Lösung von Schwefelsilber befreit war, ging ich zur direkten Benzoylierung über. Auch diesmal führte ich wieder die annähernde Bestimmung des in der Lösung enthaltenen Lysins durch Titration einer Probe derselben in der oben angegebenen Weise aus [1] und nahm auch die Benzoylierung und Verseifung in der gleichen Art vor. Die Ausfällung der gebildeten Lysursäure erreichte ich ebenfalls wieder durch Zusatz von Salzsäure unter schwachem Erwärmen. Zur Darstellung des sauren lysursauren Baryts stellte ich wie vorher durch Zusatz von Natriumcarbonat das Natronsalz der Lysursäure dar, führte dieses in das neutrale Baryumsalz über und säuerte hierauf die Lösung des letzteren unter reichlichem Salzsäurezusatz an; doch blieb die erwartete Endreaktion, die Ausfällung des sauren lysursauren Baryums in Krystallen, aus.

Mein Versuch, dieses Präparat wie bei der ersten Hydrolyse darzustellen, missglückte ebenfalls, da das Präparat auf keine Weise zur Krystallisation gebracht werden konnte. Auf Befragen teilte mir Herr Professor Drechsel mit, dass die Darstellung der Lysursäure und ihrer Verbindungen in krystallinischer

[1] Siehe Seite 26.

Form aus einer Lösung, welche Essigsäure [1] und ihre Salze in reichlicher Menge enthält, nach seinen Erfahrungen nicht allein unmöglich sei, sondern dass auch die Reindarstellung dieses Präparates zur Analyse durch oben genannte Reagentien, da dieselben durch kein Mittel entfernt werden könnten, unmöglich gemacht werde. Vielleicht, meinte Professor Drechsel, gehe die Essigsäure mit der Lysursäure eine nicht krystallisierende, molekulare Verbindung ein, die wir uns nach unsern bis jetzt bestehenden Ansichten über die Konstitution der Lysursäure nicht erklären könnten. Da ich auch bei dieser zweiten Hydrolyse mein Hauptziel, die Darstellung einer reichlichen Menge Lysins verfehlt hatte, so sah ich mich wiederum in die Lage versetzt, die Hydrolyse des Caseïns zu wiederholen.

Dritte Hydrolyse.

Auch in diesem Falle kam 1 Kilo, wie oben angegeben, behandeltes Caseïn zur Verwendung. Die Lösung und Spaltung des Caseïns verlief auch diesmal unter genau denselben Reaktionsbedingung und Erscheinungen wie oben beschrieben [2], und ich erhielt nach zehnstündigem Kochen eine braun gefärbte, harzige Masse, die ich in 2 Liter Wasser löste und wiederum auf das Volumen von circa 1 Liter abdampfte. Ein weiteres Einengen und wiederholtes Abdampfen unterliess ich, da ich die Erfahrung gemacht hatte, dass dadurch eine wesentlich intensivere Färbung des Gemisches eintrat, wodurch die Reindarstellung der Präparate erheblich erschwert wurde. Um die noch in dem Gemisch enthaltene grosse Menge an Salzsäure auszufällen, schlug ich diesmal einen anderen Weg ein, der sich im weiteren Verlaufe dieser Arbeit als in jeder Beziehung zweckmässig erwiesen hat. Die mit ungefähr einem Liter destillierten Wassers verdünnte, harzige Masse wurde zum Sieden erhitzt, hierauf mit kleinen Quantitäten Bleicarbonat versetzt, und dies so lange fortgesetzt, bis die Lösung nur noch schwach saure Reaktion zeigte. Hierauf wurde der dicke,

[1] Seite 34, Zeile 4 von oben.
[2] Experimenteller Teil, Seite 1.

braungelb gefärbte Niederschlag abfiltriert, ausgepresst, das Filtrat bis auf ungefähr $1^1/_2$ Liter abgedampft und auf Eis gestellt, sodass noch der grösste Teil des gebildeten Chlorbleis ausgeschieden wurde und durch Filtration entfernt werden konnte. Dieses Verfahren hat den grossen Vorzug, dass dadurch nicht allein eine fast vollständige Befreiung des Gemisches von Salzsäure erreicht wird, sondern die Lösung wird auch fast farblos, da die Farbstoffe durch das Chlorblei in statu nasceudi gebunden und beim Auskrystallisieren des Chlorbleis zu Boden gerissen werden. Zur Entfernung des in Lösung befindlichen Zinns verdünnte ich das Gemisch ungefähr auf das doppelte Volumen und leitete hierauf Schwefelwasserstoff ein. Hierbei machte ich die Erfahrung, dass, um vollständige Befreiung von Metallen zu erreichen, das Einleiten eine Reihe von Tagen fortgesetzt werden muss, und zwar so lange, bis die Lösung eine Tendenz zur Häutchenbildung nicht mehr zeigt. Das nur noch wenig gelb gefärbte Filtrat gab mit Ammoniumsulfid keine Färbung mehr, war daher als von Zinn befreit anzusehen. Um die kleinen Mengen Salzsäure, die beim Einleiten von Schwefelwasserstoff aus dem gelöst gebliebenen Chlorblei wieder frei gemacht wurden, zu beseitigen, wurde das Gemisch der Spaltungsprodukte noch einige Male abgedampft und wieder aufgefüllt, wobei kaum eine intensivere Färbung eintrat. Aus der Lösung schied sich abermals eine reichliche Krystallisation aus, die wie Niederschlag *A* bei Hydrolyse 2, im Wesentlichen aus Tyrosin bestand, und deren erhaltene Menge ich wiederum auf cirka 4 % angeben kann. Auch diesmal führte ich eine Elementaranalyse von diesem dargestellten Tyrosin aus, deren Resultat ich nachstehend anführe:

Analyse:

0,2350 g Substanz gaben 0,5131 g Kohlendioxyd
und 0,1314 g Wasser.

Gefunden:	Berechnet für $C_9 H_{11} NO_3$
C 59,54 %	59,67 %
H 6,21 %	6,08 %

Die Hauptmenge des zweiten Niederschlages (Fraktion B), zu dem ich noch den krystallinischen Teil der dritten Fällung hinzugefügt hatte, und der, wie bei der zweiten Hydrolyse angegeben, gereinigt wurde, bestand ebenfalls wieder aus Leucin (circa 32 %). Die Analyse ergab die erwarteten Zahlen.

Analyse.

I. 0,3110 g Substanz gaben 0,6236 g Kohlendioxyd und 0,28045 g Wasser.

II. 0,2510 g Substanz gaben 25,4 ccm Stickstoff bei 17° C. und 718 mm Druck.

Gefunden:		Berechnet für $C_6 H_{13} O_2 N$
I.	II.	
C 54,68 %	—	54,95 %
H 10,01 %	—	9,92 %
N —	10,09 %	10,69 %

Das Filtrat, welches ich nach dem Abfiltrieren des zweiten Niederschlages (Fraktion B) erhielt, dampfte ich hierauf ein bis zur dünnen Syrupexistenz, wobei sich wiederum ein Niederschlag ausschied, dessen mikroskopisches Bild nur undeutlich krystallinisches Gefüge zeigte. Diesen Niederschlag filtrierte ich nicht ab, sondern liess ihn mit der Lösung vereinigt und setzte derselben ungefähr die vierfache Menge absoluten Alkohols zu, wodurch zuerst eine milchige Trübung entstand, die immer mehr zunahm und schliesslich als krystallinische Masse sich am Boden des Becherglases absetzte, während gleichzeitig ein hellbraun gefärbtes Oel ausfiel. Durch Filtration durch ein weitmaschiges Tuch trennte ich den krystallinischen vom öligen Niederschlag und fügte ersteren, nachdem ich ihn so gut als möglich abgepresst und mit Alkohol nachgespült hatte, zu dem wie vorher beschriebenen, später auf Leucin verarbeiteten Niederschlag (Fraktion B).

Den öligen Niederschlag schüttelte ich nun wiederholt mit 80 %igem Alkohol gut durch, trennte jenen durch Decantieren vom Alkohol, erhitzte, um den noch anhaftenden Alkohol vollständig zu vertreiben, auf dem Wasserbade und löste nun den Rückstand in 500 ccm destilliertem Wasser.

Darstellung des Argininsilbernitrates.

Auf Veranlassung von Herrn Professor Drechsel machte ich mich, bei diesem Teile meiner Untersuchungen angelangt, an die Darstellung von Arginin, welches Drechsel zu Kontrollversuchen verwenden wollte. Dieser Körper ist von Schulze und Steiger [1] zuerst aus Lupinenkeimlingen dargestellt worden; später gelang es Hedin [2], denselben aus Hornsubstanz, Leim, Conglutin, Albumin und Caseïn als hydrolytisches Spaltungsprodukt zu isolieren. Ich verfuhr dabei im wesentlichen nach der von Hedin zur Darstellung des Arginins angegebenen Methode, doch brache ich einige Aenderungen an, wodurch sowohl die Darstellung vereinfacht, als auch die Ausbeute verbessert wurde. Von dem wie vorher angegeben in 500 cm^3 destillierten Wasser aufgelösten öligen Niederschlag verwandte ich 50 cm^3, also den zehnten Teil der Gesamtmenge, zur Darstellung des Arginins. Das schon eingangs dieser Arbeit erwähnte, nicht gleichartige Verhalten des phosphorwolframsauren Niederschlages [3] siedendem Wasser gegenüber gab mir eine einfache Methode an die Hand, das Lysin von den übrigen in dem Gemisch enthaltenen Basen zu trennen, indem ich den besagten Niederschlag so lange mit siedendem Wasser auswusch, als noch etwas in Lösung ging. Hierauf suspendierte ich den ungelöst gebliebenen krystallinischen Anteil in destilliertem Wasser und setzte unter schwachem Erwärmen so viel Ammoniak zu, als zur Lösung des ersteren nötig war. Nun wurde die phosphorwolframsaure Verbindung mit Barythydrat zerlegt, wobei sich unlösliches phosphorwolframsaures Baryum ausschied, das Ammoniak durch Erhitzen verjagt, der Ueberschuss an Baryt durch Ansäuern mit Schwefelsäure ausgefällt und der Ueberschuss an dieser wieder mit Barythydrat genau beseitigt. Die stark alkalisch reagierende Lösung wurde hierauf mit Salzsäure neutralisiert und zu dieser so lange eine Silbernitratlösung von bestimmtem Gehalte zugesetzt, als noch ein Niederschlag erfolgte. Dadurch wurde nicht allein

[1] Schulze und Steiger, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XI, S. 103.

[2] Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 21, S. 297.

[3] Seite 24, letzter Absatz.

die gebundene Salzsäure ausgefällt, sondern auch gleichzeitig die Menge des zur Bildung des schwerlöslichen salpetersauren Arginin-Silbernitrats nötigen Silbernitrates bestimmt. Nach dem Abfiltrieren des entstandenen Niederschlages von Chlorsilber setzte ich noch einmal eine gleiche Menge der vorher benützten Silbernitratlösung zu. Die Lösung wurde nun im Vakuum unter möglichstem Abschluss von Licht concentriert. Nach mehrtägigem Stehen schied sich ein reichlicher Krystallbrei von strahligem Gefüge aus, welcher aber immer noch einen schwachen Stich ins Gelbliche zeigte. Daher löste ich die Krystalle nach sorgfältigem Absaugen noch einmal in Wasser und setzte so lange absoluten Alkohol zu, bis eine dauernde Trübung entstand, die sich nach einigem Stehen als schöne, weisse Nadeln am Boden des Gefässes absetzte. Diese Fällung mit Alkohol, welche schon von Hedin angewandt wurde, wiederholte ich nach jedesmaligem Abfiltrieren der ausgeschiedenen Krystalle so lange, als noch eine Trübung enstand, darauf erreichte ich das Gleiche durch Aetherzusatz.

Im ganzen erhielt ich nach diesem Verfahren 0,98 Gramm analysenreines Argininsalz, welche Menge 0,42 % Arginin entspricht. Hedin giebt an, aus hydrolisiertem Caseïn nur 0,25 % Arginin erhalten zu haben. Es ist mir also gelungen, nach meiner Methode fast doppelt so viel Arginin zu erzielen, als Hedin. Dieses günstige Resultat dürfte wohl in erster Linie auf die Trennung der phosphorwolframsauren Verbindungen, wie auf Seite 28 angegeben, zurückzuführen sein, doch ist es ebenfalls nicht ausgeschlossen, dass hier die vorausgegangene Reinigung mit Bleicarbonat eine wesentliche Rolle gespielt. Dass meine Trennungsmethode auch für die aus andern Ausgangsprodukten dargestellten basischen Spaltungsprodukten angewendet werden kann, braucht wohl erst nicht erwähnt zu werden.

Analyse.

I. 0,2130 g Substanz gaben 0,1374 g Kohlendioxyd und 0,0738 g Wasser.

II. 0,1500 g Substanz gaben 28,5 ccm Stickstoff bei 16° C. und 718 mm Druck.

III. 0,3250 g Substanz gaben 0,1142 g Ag Cl.

Gefunden:				Berechnet für
	I.	II.	III.	$C_6H_{14}N_4O_2 + HNO_3 + AgNO_3$:
C	17,59 %	—	—	17,69 %
H	3,85 %	—	—	3,68 %
N	—	20,90 %	—	20,64 %
Ag	—	—	26,44 %	26,54 %

Darstellung II des sauren lysursauren Baryts.

Ich zersetzte, wie schon bei der ersten Hydrolyse angegeben, den phosphorwolframsauren Niederschlag durch Barythydrat, entfernte den Ueberschuss an Baryumhydroxyd durch Einleiten von Kohlensäure und titrierte darauf, wie bereits auf Seite 13 ausgeführt, mit $^1/_{10}$ Normalsalzsäure, um annähernd den Gehalt an Lysin zu bestimmen. Nun nahm ich die Benzoylierung nach Schotten-Baumann vor und fällte durch Ansäuern mit Salzsäure und Erhitzen auf dem Wasserbade die rohe Lysursäure als nur schwach gefärbten öligen Niederschlag aus. Wie vorher schon ausgeführt, schüttelte ich diesen öligen Niederschlag, um ihn von der anhaftenden Benzoesäure zu befreien, wiederholt mit Wasser durch und löste ihn unter Erwärmen in Barytwasser auf, wobei ein dunkel gefärbter Niederschlag fiel, der durch Filtrieren beseitigt wurde. Nun erwärmte ich die Lösung nur schwach auf dem Wasserbade und säuerte sie mit H Cl bis zur schwach sauren Reaktion an. Schon nach einigen Minuten begann die Krystallisation, bis die Flüssigkeit durch und durch zu einem Krystallbrei erstarrt war, der abgesaugt und bei 110° getrocknet wurde. Auch aus der abgesaugten Mutterlauge wurden durch nochmaligen Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure ganz geringe Mengen des Präparates gewonnen, die zur Hauptmasse hinzugefügt wurden.

Um die Substanz, die immerhin noch einen schwachen Stich ins Gelbliche zeigte, zu reinigen, löste ich dieselbe in absolutem Alkohol und fällte sie durch vorsichtigen Wasserzusatz wieder aus. Diesen Reinigungsprozess wiederholte ich einige Male und erhielt auf diese Weise schneeweisse, schöne Nadeln, die bei 110° getrocknet, 8,2 gr ausmachten. Zu dieser

Darstellung wurden 50 cm³ Basengemisch verwandt, die 100 g Caseïn entsprachen. Die Ausbeute an saurem lysursauren Baryum beträgt also 8,2 %.

Analyse des sauren lysursauren Baryts:

I. 0,2010 g Substanz geben 0,4554 g Kohlendioxyd und 0,1013 g Wasser.

II. 0,3020 g Substanz gaben 0,0445 g $BaSO_4$.

Gefunden:		Berechn. für $C_{80}H_{86}N_8O_{16}Ba$:
I.	II.	
C 61,79 %	—	61,30 %
H 5,59 %	—	5,54 %
Ba —	8,66 %	8,83 %

Die Leichtigkeit, mit der in diesem Falle die Bildung des sauren lysursauren Baryts vor sich ging, war erstaunlich, wenn man die Schwierigkeiten bedenkt, welche die Darstellung dieses Präparates bei der ersten Hydrolyse bereitete. Vielleicht ist auch in diesem Falle die vorausgegangene Reinigung mit Bleicarbonat von Wert gewesen. Hierauf nahm ich den zweiten Teil, 450 cm³, des Basengemisches in Arbeit. Derselbe musste annähernd 27 Gramm Lysin enthalten, da bei der Darstellung des Lysins aus dem ersten auf Arginin verarbeiteten Anteil des Basengemisches 3,00 Gramm Lysinchlorhydrat erhalten waren. Ich konnte in diesem Falle die Titration unterlassen und benzoylierte in der wiederholt angegebenen Weise.[1] Hierauf erwärmte ich das Benzoylierungsgemisch auf dem Wasserbade und setzte reichlich Salzsäure bis zur intensiven Reaktion auf Congo zu. Nach längerem Stehen hatte sich wiederum die Lysursäure als Oel abgesetzt. Ich trennte dieselbe durch Decantieren von der Mutterlauge, wusch mit destilliertem Wasser durch Schütteln aus und erhielt so ein zur weiteren Verarbeitung auf reine Lysursäuro geeignetes Präparat, das ich in Barythydratlösung löste.

[1] Seite 26.

Darstellung III des sauren lysursauren Baryts.

Diese Lösung teilte ich in zwei Teile *A* und *B* und fällte aus dem einen Teil *A* die Lysursäure durch Erhitzen unter gleichzeitigem Zusatz von Salzsäure wieder aus. In den zweiten Teil *B* leitete ich so lange Kohlendioxyd ein, bis der Ueberschuss an Baryt ausgefällt war. Auf diese Weise erhielt ich eine Lösung von neutralem lysursaurem Baryum *B*, zu der ich den nochmals mit geringen Mengen Wasser ausgeschüttelten und nachher in Alkohol gelösten Niederschlag aus der Lösung *A* hinzufügte.

Schon bei dem Zusammenbringen der beiden Lösungen zeigte sich eine starke Opalescenz der Flüssigkeit, die an Intensität immer mehr zunahm. Nach circa zweistündigem Stehen war die Flüssigkeit zu einer durch und durch krystallinischen, breiigen Masse erstarrt, die abgesaugt, schneeweise, federartige Krystalle repräsentierte, deren Gesamtmenge nach längerem Trocknen bei 110 Grad sich auf 82,5 Gramm stellte. Um eine Probe auf weiteren Gehalt der Mutterlauge an lysursaurem Baryt zu machen, wurde dieselbe mit Salzsäure angesäuert; *doch trat keine Ausscheidung von Krystallen auf.*

Analyse des sauren lysursauren Baryts.

I. 0,3530 g Substanz gaben 0,7990 g Kohlendioxyd und 0,1808 g Wasser.

II. 0,3440 g Substanz gaben 0,0509 g $BaSO_4$

Gefunden:			Berechn. für $C_{80}H_{86}N_8O_{16}Ba$:
	I.	II.	
C	61,80 %	—	61,90 %
H	5,69 %	—	5,54 %
Ba	—	8,70 %	8.83 %

Die Ausbeuten der ersten und zweiten Darstellung des sauren lysursauren Baryts bei dieser Hydrolyse sind sehr verschieden, und zwar sind die Resultate günstiger bei der zweiten Darstellung.

Bei Darstellung II wurde 9,16 % Ausbeute erzielt, während bei Darstellung I ein wesentlich niederer Prozentsatz, 8,2 %, erreicht wurde. Da beide Präparate aus dem durch Bleicarbonat

gereinigten Hydrolisengemisch dargestellt waren, ist die bei der letzten Darstellung erhaltene gute Ausbeute wohl ausschliesslich auf die in diesem Falle eingeschlagene Methode, Darstellung des sauren lysursauren Baryts durch Mischen einer Lösung von neutralem lysursaurem Baryt und in Alkohol gelöster, freier Lysursäure zurückzuführen. Auch der negative Ausfall der Prüfung der Mutterlauge auf weiteren Gehalt an lysursaurem Baryt (Zusatz von Salzsäure) spricht dafür, dass die Bildung des Präparates im Falle II quantitativ vor sich gegangen ist. Um die ganze Menge des sauren, lysursauren Baryts auf Lysin zu verarbeiten, musste ich vorerst die reine Lysursäure aus diesem Präparat darstellen. Dies geschah in der auf Seite 28 beschriebenen Weise, durch Erhitzen des in Wasser suspendierten Präparates und Zusatz von Natriumcarbonatlösung, bis eine gezogene Probe, mit einem Tropfen Salzsäure versetzt, aufbrauste. Das in Lösung befindliche Natriumsalz der Lysursäure wurde nun mit Salzsäure zersetzt und so die reine Lysursäure ausgefällt, die nach wiederholtem Auswaschen mit destilliertem Wasser getrocknet und gepulvert wurde.

Spaltung der Lysursäure.

Um aus der Lysursäure das Lysin abzuspalten, schlug ich diesmal einen anderen Weg ein. Ich löste einen Teil der dargestellten Lysursäure, 16 Gramm, in 20 Gramm koncentrierter Schwefelsäure und brachte die beiden Hälften dieser Lösung in je ein Einschmelzrohr, füllte in jedes Rohr noch vorsichtig, unter Kühlung, 10 ccm destilliertes Wasser und ebensoviel absoluten Alkohol und schloss die Röhre in der Weise durch Abschmelzen, dass nur die Hälfte des Raumes von der Flüssigkeit angefüllt war. Hierauf erhitzte ich das Gemisch allmählich auf 130 Grad im Schiessofen während sechs Stunden. Nach dem Abkühlen zeigte sich der Inhalt der Röhre in zwei Schichten geteilt, von denen die obere aus Benzoesäure-Aethyläther bestand, die untere eine Lösung von Lysinsulfat in verdünnter Schwefelsäure enthielt. Nach dem Oeffnen der Röhren brachte ich den Inhalt in einen Scheidetrichter, trennte den

ätherischen Teil von dem wässerigen und wusch letzteren wiederholt mit Aether, um die letzten Spuren von Benzoesäure daraus zu beseitigen. Darauf verdünnte ich mit destilliertem Wasser auf 2 Liter und fällte unter vorsichtigem Zusatz von Baryumhydroxyd bei Siedetemperatur die Schwefelsäure aus, bis die Flüssigkeit Congopapier nur schwach violett färbte. Die noch etwas sauer reagierende Lösung wurde nun filtriert und auf dem Wasserbade eingedampft. Der harzige, leicht zerbröckelnde Rückstand, welchen ich auf diese Weise erhalten hatte, bestand aus Lysinsulfat und wenig Schwefelsäure. Trotz der verschiedensten Versuche, das Lysinsulfat krystallinisch darzustellen, gelang es mir nicht, dies zu erreichen, daher beschloss ich, wiederum das lysincarbaminsaure Lysin darzustellen, um von diesem ausgehend, weitere Verbindungen des Lysins zu erhalten. Ich erhitzte daher oben bezeichnetes Gemisch unter Barytwasserzusatz auf dem Wasserbade, bis sämtliche Schwefelsäure ausgefällt war und entfernte den Ueberschuss an Baryumhydroxyd durch Einleiten von Kohlendioxyd. Die filtrierte Lösung dampfte ich zu Syrupkonsistenz ab und verfuhr dann weiter wie auf Seite 19 angegeben.

Analyse des lysincarbaminsauren Lysins.

0,1850 g Substanz gaben 0,3160 g Kohlenoxyd
und 0,1420 g Wasser.

Gefunden:	Berechn. für $C_6H_{12}NO_2NH.CO.O.NH_3C_6H_{12}NO_2$:
C 46,58 %	46,43 %
H 8,52 %	8,34 %

Darstellung des Lysinmonochlorhydrats.

Einen Teil (zwei Gramm) des oben beschriebenen Lysincarbonats löste ich in einer sehr geringen Menge Wassers, sodass die Lösung syrupöse Konsistenz hatte; hierauf setzte ich bis zur genauen neutralen Reaktion sehr stark verdünnte Salzsäure zu und versetzte das Gemisch nun mit ungefähr zwanzig Kubikcentimeter Aceton. Diese Lösung blieb auch nach mehrtägigem Stehen vollständig klar und schied erst nach

tropfenweisem Zusatze von Amylalkohol eine in Nadeln und Prismen krystallisierende, schwach gelbliche Verbindung aus, die bei 110 Grad getrocknet wurde. Da dieses Präparat einen schwachen Stich ins Gelbliche zeigte, löste ich dasselbe noch einmal in wenig Wasser auf und schied es diesmal mit Aethylalkohol ab, der ebenfalls nur in geringer Menge zugesetzt wurde. Die durch Absaugen von der Mutterlauge befreite Substanz wurde wiederum bei 110 Grad getrocknet und stellte ein aus sehr schönen, charakteristisch ausgebildeten Nadeln und Prismen bestehendes, vollständig wasserklares Präparat dar.

Analyse des Lysin-Monochlorhydrats.

0,2850 g Substanz gaben 0,4112 g Kohlendioxyd und 0,2063 g Wasser.

Gefunden:	Berechn. für $C_6 H_{15} N_2 O_2 Cl$:
C 39,34 %	39,45 %
H 8,04 %	8,219 %

Dieses Monochlorhydratlysin ist meines Wissens noch nicht dargestellt worden; wenigstens habe ich keine diesbezüglichen Angaben in der Litteratur finden können.

Darstellung des Lysindichlorhydrats.

Bei der Darstellung des Lysindichlorhydrats, einem Präparate, welches von Drechsel bereits dargestellt wurde, verfuhr ich nach der mir von Drechsel bekannt gegebenen Methode, indem ich ungefähr ein Gramm Lysincarbonat bis zur sauren Reaktion mit Salzsäure versetzte, abdampfte, hierauf in nicht zu viel Wasser aufnahm und ganz vorsichtig mit Aethyl-Alkohol bis zur schwachen Trübung versetzte. Die durch den Alkohol angeregte Krystallisation wurde durch weiteren Zusatz dieses Reagenzes unterstützt. Nach zweimaligem Umkrystallisieren in der angegebenen Weise erhielt ich den Körper als fast weisse, krystallinische Masse, deren mikroskopisches Bild Conglomerate von Prismen und Nadeln zeigte. Die dargestellte Substanz wurde bei 110 Grad getrocknet und der Analyse unterworfen.

Analyse des Lysindichlorhydrats.

I. 0,3010 g Substanz gaben 0,6030 g Kohlendioxyd und 0,2031 g Wasser.

II. 0,335 g Substanz gaben bei 15 Grad Celsius und 716 mm Druck 40,0 ccm Stickstoff.

Gefunden:		Berechn. für $C_6H_{14}N_2O_2Cl_2$:
I.	II.	
C 32,64 %	—	32,08 %
H 7,49 %	—	7,307 %
N —	13,16 %	12,78 %

Die vorstehende Arbeit ist bereits im Dezember 1898 der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Freiburg in der Schweiz eingereicht worden. Daraus erklärt sich, dass die spätere Litteratur über das Lysin nicht berücksichtigt worden ist. Aeussere Gründe haben die Drucklegung der Arbeit verzögert.

Der zweite Teil der vorliegenden Arbeit wurde unter der Leitung des Herrn Prof. *Drechsel* im Institut desselben an der Universität Bern ausgeführt. Nach dem Tode dieses meines hoch verehrten Lehrers fand ich Aufnahme im Laboratorium für organische Chemie in Bern, wo ich den zuerst abgedruckten Teil der vorliegenden Dissertation auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Prof. *St. von Kostanecki* ausführte.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem letzteren Herrn für seine mir erteilten wertvollen Ratschläge meinen besten Dank zu sagen.

Das Andenken des verewigten Herrn Prof. Drechsel werde ich stets in hohen Ehren halten.

Lebenslauf.

Ich, Heinrich Ryl, wurde in Kielce (Russisch-Polen) am 28. Oktober 1866 geboren. Auf dem philologischen Gymnasium vorgebildet, widmete ich mich drei Jahre lang dem theoretischen und praktischen Studium der Pharmacie und bestand im Jahre 1886 an der Universität zu Warschau die Apothekergehülfenprüfung. Nach weiterer dreijähriger, praktischer Beschäftigung wurde ich bei der pharmaceutischen Abteilung der Universität Warschau regelrecht immatrikuliert, legte dort nach einem Studium von zwei Semestern die sogenannte Promotionsprüfung ab und erwarb nach weiteren Studien im Jahre 1891 das Diplom eines « Provisor Pharmaciae ».

Um mich für den Beruf eines gerichtlichen Chemikers weiter auszubilden, liess ich mich im Jahre 1894 an der Universität in Bern immatrikulieren, wo ich vier Jahre verblieb. Ich wandte mich dann nach Freiburg in der Schweiz und bestand hier am 19. Juli 1900 die mündliche Prüfung zur Erlangung der Würde eines « Doctor philosophiae naturalis ».